НАРКОМЗДРАВ СССР — ГЛАВХИМФАРМПРОМ

ВСЕСОЮЗНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Н. А. МАСАЛАБ

МЕТОДЫ
ПАРАЗИТНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ СПОРЫНЬИ ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ ЦЕЛЕЙ

МЕДГИЗ 1941

Редактор **Б. Н. Степаненко.**

Подписано к печати 14/II 1941 г. Л12135. 2½ печ. лист., 3 авт. лист. 46 000 знаков в 1 п. л. Тираж 600 экз. Цена 1 руб. 50 коп. Переплет

Тип. изд-ва «Черная металлургия», Москва, Цветной бульвар, 30.

ВВЕДЕНИЕ

В результате проведения государственных плановых мероприятий по борьбе с болезнями сельскохозяйственных растений распространение на ржи спорыньи — Claviceps purpurea Tul. — стало незначительным. Поэтому лечебными учреждениями уже в течение ряда лет испытывается недостаток в рожках (склероциях гриба), из которых приготовляются кровоостанавливающие средства.

В связи с этим перед Научно-исследовательским институтом лекарственных растений была поставлена задача изыскать способы искусственного разведения гриба для получения покоящейся стадии его — рожков. Потребность в них для нужд здравоохранения в СССР исчисляется несколькими сотнями тонн в год.

Для удовлетворения потребности в спорынье можно применять различные способы культивирования гриба — разведение его на естественном субстрате — ржи, культивирование на ряде питательных сред, и, наконец, можно отыскивать заменители среди грибов, имеющих в цикле развития склероциальные образования.

При культивировании гриба на естественном субстрате возможно распространение инфекции на посевы ржи, граничащие с очагами заражения. Поэтому использование других видов спорыньи, паразитирующих на иных растениях, имеет большое значение [1]. Во всех случаях развитие гриба будет зависеть от ряда условий, и, в первую очередь, от экологических факторов.

В связи с этим испытание способов разведения гриба на искусственных средах является наиболее перспективным. В случае получения положительных результатов можно будет перейти к промышленному способу приготовления препаратов из культур спорыньи на средах.

До изыскания же таких способов потребности медицины в рожках придется удовлетворять путем разведения гриба на ржи, проводя при этом систему предупредительных мероприятий против распространения инфекции. Такие условия легко можно будет создать в специализированных «спорыньевых» хозяйствах, которые надо организовать в местах, изолированных естественными или искусственными преградами (лесами, горами и др.) от общих массивов зерновых культур.

При выборе способов заражения ржи необходимо основываться на известных из литературы данных о биологии гриба и результатах опытных работ, проведенных в 1939 г. Всесоюзным научно-исследовательским институтом лекарственных растений.

[1] Из таких видов спорыньи следует упомянуть Claviceps microcephala, паразитирующую на тростнике.

ЛИТЕРАТУРНЫЕ ДАННЫЕ О БИОЛОГИИ ГРИБА И ОПЫТАХ ИСКУССТВЕННОГО ЗАРАЖЕНИЯ РЖИ

Рожки спорыньи, нашедшие применение в медицине, представляют собой покоящуюся стадию гриба Claviceps purpurea Tul. из класса Ascomyceteae, порядка Pyrenomycetales, семейства Hypocreaceae. В качестве лекарственно-технического сырья используются рожки, образовавшиеся на ржи.

Гриб способен паразитировать не только на ржи, но и на многих культурных и дикорастущих злаках; распространен он почти по всей Европе, Азии, северо-западной Африке и Америке (1). Рождественский (6) приводит 164 вида злаков, на которых была найдена спорынья (но не только Claviceps purpurea Tul.). Среди этих растений находятся виды Agropyrum, Agrostis, Avena, Bromus, Festuca, Hordeum, Secale и др.

Варлих (1) указывает, что в северной Европе до 69° северной широты и средней Европе из культурных злаков спорынья поражает преимущественно рожь, реже ячмень и овес; в южных странах — главным образом пшеницу.

Основным источником заражения ржи в полевых условиях считаются склероции (рожки) гриба, которые после созревания или во время уборки урожая опадают с колосьев в почву, в которой перезимовывают. Не лишена возможность занесения их в почву вместе с посевным материалом, если последний недостаточно тщательно очищен.

Весной рожки прорастают, т. е. на рожках образуются шаровидные головки — стромы, в которых заключено большое количество плодовместилищ — перитециев. В последних образуются аскоспоры, способные заражать во время цветения рожь. Число головок на склероциях колеблется от одной до тридцати. В них образуется масса аскоспор. Так, по Кюну (Kühn), один рожок с пятнадцатью головками содержит до 1 000 000 аскоспор.

В результате заражения завязей ржи аскоспорами (первичное заражение) развивается конидиальная стадия гриба, являющаяся источником распространения инфекции летом. Эта стадия известна под названием медвяной росы (конидии гриба взвешены в каплях сладковатой жидкости, свисающей с зараженных колосьев).

Одновременно с образованием медвяной росы происходит разрастание гриба в тканях пораженных завязей. Через извест-

ный промежуток времени на зараженных колосьях обнаруживаются вполне сформировавшиеся рожки, которые потом приобретают фиолетовую окраску. После созревания они осыпаются или попадают в почву при уборке ржи.

Прорастание рожков в поле зависит от сочетания ряда экологических факторов, но условия эти еще недостаточно изучены. В литературе существуют указания, что лучше всего прорастают созревшие рожки, сами выпавшие из колоса. Рекомендуют при опытах попеременно подсушивать и смачивать их. Необходимым условием для прорастания их считается сочетание влажности с низкими температурами.

Всесоюзным институтом защиты растений обобщены результаты наблюдений за метеорологическими условиями, при которых происходило прорастание рожков и развитие спорыньи в полевых условиях 7,2. При этом указывается, что рожки, перезимовавшие в сухих условиях и при комнатной температуре, неспособны прорастать. В естественных же условиях рожки находятся под воздействием колеблющихся температур и влажности почвы в течение 8—9 месяцев. Большое значение придается осеннему увлажнению почвы, которое считается благоприятным для весеннего прорастания рожков, если за сентябрь—октябрь предыдущего года выпадало не менее 150 мм осадков (2).

Таблица 1

Метеорологические условия, при которых происходит прорастание рожков спорыньи (по Владимирскому)

Наименование пункта	Дата появления стром	Температура почвы в °C	Влажность почвы в %	Температура воздуха в °C	Количество осадков в мм	Относительная влажность воздуха в %
Белая Церковь .	2/VI 1935 г.	17,6	22,0	15,3	15,4	48,6
Бежецк	25/V 1935 г.	13,5	27,0	12,0	3,5	66,0
Гомель	11/VI 1936 г.	12,8	Неизвестно	20,5	27,8	67,9
Красноград . . .	29/V 1935 г.	Неизвестно	22,0	18,1	31,2	59,0
Томск	19/VI 1936 г.	13,1	Неизвестно	12,2	8,4	61,1
Великий Устюг {	15/VII 1935 г.	17,4	22,3	17,2	67,0	77,0
	30/VI 1936 г.	19,3	Неизвестно	17,3	22,0	Неизвестно
Череповец . . .	15/VI 1936 г.	Неизвестно	Неизвестно	18,5	13,3	62,1

Однако опыты Ротерса (7) показали, что рожки, попавшие с осени в почву на глубину 5—10 см, потом сгнивают и не могут быть источниками заражения, хотя они и дают стромы. По его мнению, источниками инфекции являются только те склероции, которые зимовали на поверхности почвы или же на глубине до 3 см, а также те, которые попали в нее при весеннем севе яровых злаков. Чем позже весной попадают рожки в поле, тем меньше будет их способность к прорастанию. Результаты наблюдений за изменением метеорологических факторов, отмеченные наблюдательными пунктами Всесоюзного института защиты растений во время прорастания рожков, сведены Владимирским в табл. 1 (стр. 5).

Можно думать, что главную роль среди приведенных факторов играет температура почвы в пределах 12—19° и влажность почвы. Как указывает Мархасева (4), при 33—35% почвенной влаги от 14 до 57% рожков загнивает, в то время как при влажности в 3—10% прекращается развитие стром. Возможно, что увлажнение почвы в пределах 25—30% будет благоприятным для прорастания склероциев.

Для первоначального заражения ржи, повидимому, необходимо наличие достаточного запаса инфекции в почве. Однако некоторые исследователи считают (7), что даже при незначительном запасе в поле рожков, но при благоприятных метеорологических условиях можно ожидать эпифитотии спорыньи. Само созревание и выбрасывание аскоспор также зависят от ряда метеорологических условий. Так, при высокой относительной влажности воздуха, соответствующем количестве осадков и температуре созревание аскоспор происходит в короткий срок. В противном случае эти фазы развития затягиваются до 15—30 дней. Вообще же целый ряд исследователей отмечал, что чем больше выпадает осадков в период цветения ржи, тем больше бывает спорыньи. Зависимость развития спорыньи от метеорологических факторов подтверждается следующими данными (табл. 2).

Автор таблицы делает вывод, что с уменьшением относительной влажности воздуха уменьшается процент заражения ржи. При относительной влажности воздуха в декаду цветения и две предыдущие в 70% и выше, температуре воздуха не выше 13—15° и продолжительности цветения до 14 дней можно ожидать сильного развития спорыньи. Среднее развитие спорыньи (1,4—2,8%) можно ожидать при относительной влажности воздуха в те же периоды около 66%.

При относительной же влажности воздуха в 55—58% и сокращении периода цветения ржи до 10 дней будет наблюдаться резкое снижение развития спорыньи (2). Этим подтверждается значение как для прорастания рожков, так и для степени распространения спорыньи таких экологических факторов, как

Таблица 2

Усиление поражения спорыньей ржи с увеличением относительной влажности воздуха (по Владимирскому)

Наименование пунктов	Год	Среднее за три декады		Процент поражения
		Температура воздуха в °С	Относит. влажн. воздуха в %	
Вятка	1889	12,8	82	Массовое развитие гриба
Бежецк	1935	14,5	70	5,8
Новозыбков	1934	13,9	70	4,5
Сафоново	1934	14,4	69	0,9—9,2
Брянск	1934	15,0	66	1,5
Киев	1935	15,5	58	0,7
Сасово	1934	15,3	57	0,6
Калинин	1934	14,6	55	0,7
Куйбышев (Лунинский район)	1935	15,8	47	Единичные рожки
Белая Церковь	1936	14,5	42	0
Каменная Степь	1936	14,7	44	0

температура, количество осадков и относительная влажность воздуха.

Однако указанные условия не всегда влекут за собой значительное развитие спорыньи. Известно, например, что в Ирландии наибольшее развитие спорыньи происходит только в сухую и жаркую погоду (6). Повидимому, биология данного гриба еще недостаточно изучена, и потому нельзя найти правильного истолкования причин такого проявления болезни в условиях, отличающихся от наших.

При изучении биологии гриба различными исследователями неоднократно проводились опыты искусственного заражения ржи грибом. Наиболее верным способом считается разбалтывание аскоспор или конидий медвяной росы в воде и опрыскивание этой взвесью колосков опытных растений. Кроме того, в такую взвесь погружали на некоторое время колоски, как это делал Штегер (Stäger).

Клебан (Kleban)[1] производил заражение растений аскоспорами из рожков, проращенных в цветочных горшках под стек-

[1] Цитируется по Рождественскому (6).

лянными колпаками. Цветущие растения помещались над горшками горизонтально и колпаки снимались. Тогда освобождаемые стромами аскоспоры попадали на цветущие растения и заражали их.

Для таких же опытов Геке (Hecke)[1] помещал колосья ржи в стеклянные трубки, закрытые с обеих сторон ватой, куда вводился рожок с созревшими головками. После появления медвяной росы Геке собирал ее на фильтровальную бумагу, на которой конидии долго не теряли вирулентности. В его дальнейших опытах с 1 га шланштетской ржи можно было получить 284 кг спорыньи.

Большое число заражений при изучении рас спорыньи провел Штегер (3). Заражения производились методом опрыскивания растений аскоспорами и конидиями из образовавшейся медвяной росы или же опрыскиванием конидиями из культур гриба на средах. Результаты изучения указанным исследователем спорыньи весьма важны для практических целей. Оказывается, вид спорыньи Claviceps purpurea Tul. распадается в основном на три специализированные биологические формы, различно относящиеся к питающим растениям — хозяевам. Наиболее многоядной является Forma biologica secalina St., которая, кроме ржи, может заразить ячмень, пшеницу и много дикорастущих злаков: Anthoxanthum odoratum L. (пахучий колосок), Bromus sterilis L. (костер бесплодный), Poa pratensis L. (мятлик луговой), Dactylis glomerata L. (ежа сборная), Festuca pratensis Huds. (овсяница луговая) и др.

В то же время эта биологическая форма гриба не поражает такие злаки, как Poa fertilis L. (мятлик поздний), Poa annua L. (мятлик однолетний), Bromus erectus Huds. (костер прямой) и виды плевела — Lolium temulentum L. (плевел опьяняющий) и др. Последние два растения заражаются другой формой гриба, которая обозначается как Forma biologica Lolii St. Она в свою очередь не поражает рожь.

Наконец, Forma biologica Brachypodii silvatica St. поражает Brachypodium silvaticum R. et Sch. (коротконожку лесную) и Milium effusum L. (бор лесной). При этом у данного гриба намечается двудомность. Так, аскоспоры поражают цветы Milium effusum L., цветение которых совпадает с прорастанием рожков этого гриба, а образовавшиеся конидии поражают цветущие к моменту их развития растения Brachypodium silvaticum R. et Sch.

Известны также опыты заражения ржи с целью получения больших количеств рожков спорыньи. Среди таких исследований особого внимания заслуживают работы Бекези (Békésy) (9), который сконструировал особую машину для заражения. При работе машины колосья ржи проходят между двумя валиками, один из которых придерживает колосья, в то время как их про-

[1] Цитируется по Рождественскому (6).

калывают иглы, расположенные на боковой поверхности другого валика. В этих иглах имеются каналы, благодаря чему поступающая из резервуаров инфицированная жидкость остается в цветках, попавших под иглы.

Однако при этом способе заражению подвергается только незначительная часть цветов и дальнейшее распространение болезни зависит от участия насекомых. Вследствие этого автор рекомендует поля с рожью располагать на низких местах вблизи лугов.

Кроме того, эти исследования не разрешили основного вопроса о заготовке больших количеств инфекционного материала, необходимого для заражения больших площадей ржи.

Следует еще упомянуть об общих мерах, которые рекомендовал Чермак (12), как способствующие сильному распространению болезни. Среди этих мер он приводит очень редкий посев ржи, посев ее на длинных узких полосах, далеко отстоящих одна от другой, или же посев единичных рядов ее среди других злаков; посев ржи в различные сроки, чтобы получать недружное цветение; использование вырождающихся форм и вообще сортов, у которых почему-либо затруднено цветение. В этих случаях неоплодотворенные цветы долго остаются открытыми и легко поддаются заражению.

Кроме того, описан способ заражения ржи во время цветения с помощью каната, который тянулся в различных направлениях на высоте колосьев. Канат смазывался медвяной росой, и конидии механически переносились на здоровые цветы.

Таким образом, результаты предыдущих опытных работ показывают, что надежного способа заражения ржи, который можно было бы рекомендовать в связи с возникшим недостатком в рожках спорыньи, до сих пор нет.

ОПЫТЫ С ПРОРАЩИВАНИЕМ СКЛЕРОЦИЕВ СПОРЫНЬИ

Источником первоначального заражения ржи в полевых условиях считаются рожки, попадающие осенью или весной в почву и прорастающие потом ко времени цветения ржи. Однако условия, при которых происходит прорастание рожков, недостаточно изучены, и это не дает нам уверенности в возможности ежегодного получения массового заражения ржи.

Как уже было указано, для успешного прорастания рожков необходимо воздействие низких температур и сильное увлажнение почвы, особенно в осенний период. Кроме того, указывалось, что рожки, зимовавшие в теплом и сухом помещении, неспособны потом прорастать в естественных условиях. Пребывание рожков в почве, доходящее в естественных условиях до 8—9 месяцев, в условиях опытов было доведено до 4—5 месяцев.



Рис. 1. Проросшие рожки спорыньи из Вологды. Опыты 1939 г.

Однако ориентировочные опыты, проведенные в 1938 г., указали на возможность прорастания рожков и при других условиях. Так, рожки из Вологды и Новосибирска сбора 1937 г., сохранявшиеся зиму в сухой и теплой комнате и высеянные в феврале по методике, разработанной автором для прорастания склероциев некоторых видов Sclerotinia (5), через 3 месяца дали стромы (рис. 1) [1], в которых потом развились перитеции с сумками и сумкоспорами.

[1] Все приведенные макро- и микрофотографии являются оригинальными. *Н. М.*

В 1939 г. возможность прорастания рожков, сохранявшихся в сухом месте и при комнатной температуре, подтверждена была даже при сокращении срока нахождения их в естественных условиях. Вообще опыты 1939 г. носили более широкий характер.

Материал для экспериментов был взят из двух мест: из Куйбышевского края и Новосибирской области. Условия заготовки рожков были неизвестны, время сбора — из Куйбышева 1938 г., из Новосибирской области 1937—1938 гг. Известно, что некоторое время рожки хранились в деревянном неотапливаемом помещении, где подвергались в сухом виде действию низких температур (морозу).

По внешнему виду рожки из Куйбышева были меньше размером, с более темной глянцевитой поверхностью, с небольшим количеством продольных трещин. Рожки из Новосибирска были более крупными, с большим количеством глубоких продольных, а иногда и поперечных трещин, с матовым оттенком поверхности (без блеска). Возможно, что внешний вид последних склероциев зависел от времени заготовки или же был связан с экологическими условиями, при которых происходило развитие рожков.

Массовые высевы рожков из Куйбышева и Новосибирска были произведены в первых числах марта 1939 г. Для этого рожки раскладывались при комнатной температуре в ящики на поверхность почвы или же помещались на глубину 1—2 см и постепенно «напитывались» водой. Потом ящики переносились на 2 дня в коридор с температурой от +4 до +6° и после этого в сад, где первое время подвергались естественным колебаниям температуры при повышенной влажности почвы. Температурные условия этого периода характеризуются следующими данными (табл. 3).

Таблица 3

Температурные условия, при которых выдерживались рожки спорыньи в естественных условиях в течение марта 1939 г.

Декада	Средняя температура за декаду, в °C
Первая	—5,9
Вторая	+5,2
Третья	+8,3

Как видно, за указанный период рожки подвергались действию низких температур — промораживанию, причем отрицательные температуры в некоторые дни доходили до — 11,1°. Обычно низкие температуры сменялись более высокими, что приводило к периодическому оттаиванию рожков. При наступлении более высоких температур ящики накрывались соломенными матами, сперва только на день, но потом на круглые сутки.

Таблица 4

Температурные условия при проращивании рожков спорыньи в 1939 г. (в °С)

Дата	Температура с 7 час. утра до 9 час. вечера		Температура с 9 час. вечера до 7 час. утра		Дата	Температура с 7 час. утра до 9 час. вечера		Температура с 9 час. вечера до 7 час. утра	
	максимальная	минимальная	максимальная	минимальная		максимальная	минимальная	максимальная	минимальная
8/IV	19,0	3,5	7,0	0,5	24/IV	27,0	9,5	20,0	9,5
9/IV	16,5	1,5	9,0	3,0	25/IV	25,0	12,5	14,8	8,0
10/IV	12,0	5,0	11,5	4,0	27/IV	18,0	8,5	13,5	10,0
11/IV	9,0	5,0	7,5	1,1	28/IV	24,0	10,0	16,0	11,5
12/IV	12,5	3,0	3,5	2,0	30/IV	24,0	13,5	13,5	12,0
13/IV	12,0	2,5	6,5	1,7	2/V	20,5	—	10,0	—
14/IV	12,0	2,0	8,5	5,0	5/V	31,5	19,0	20,0	19,0
15/IV	15,5	3,0	12,0	4,0	6/V	28,5	14,5	15,0	15,0
16/IV	—	—	12,5	8,0	7/V	30,0	14,5	14,0	13,0
17/IV	24,5	8,5	14,0	5,0	8/V	19,0	—	16,0	—
18/IV	19,5	9,0	14,0	10,0	10/V	19,0	—	17,0	—
19/IV	17.5	10,5	13,0	10,0	11/V	19,0	—	14,5	—
20/IV	17,0	9,5	12,0	5,5	12/V	17,0	—	15,0	—
21/IV	17,5	4,5	7,0	2,0	13/V	17,5	—	13,5	—
22/IV	17,5	5,0	8,0	5,0	14/V	16,0	—	14,0	—
23/IV	29,0	7,5	15,5	9,0	15/V	16,5	—	15,0	—

Таким образом, даже в сильную жару удавалось несколько снижать температуру по сравнению с естественной (табл. 4). Во все время опытов в ящиках поддерживалась повышенная влажность почвы, которая периодически проверялась. Она колебалась в пределах 30—37% (табл. 5).

Таблица 5

Данные о влажности почвы в опытах с проращиванием рожков спорыньи

Дата анализа	Влажность почвы в ящиках, в %	Влажность почвы на полевых участках, в %	Примечание
7/IV	33,27	21,42	
17/IV	29,84	17,0	
4/V	37,98	23,91—22,60	Пробы взяты с нескольких участков
20/V	37,37	14,33—27—18—28	

Большое значение имело установление наименьшего срока, во время которого должны находиться рожки перед прорастанием в описываемых выше условиях. Поэтому, начиная с марта и до середины мая, рожки периодически высевались в ящики, находившиеся в саду. В связи с существующими в литературе указаниями о стимулирующем действии на рожки определенных температур (8) отдельные пробы склероциев перед высевом подвергались прогреванию и охлаждению.

Для испытания действия низких температур рожки после предварительного увлажнения (напитывания водой) выдерживались при 0° в течение 15, 30 и 45 дней. Для изучения действия высоких температур склероции помещались в термостат при 40°; через каждые 3 часа температура повышалась в термостате на 10°. Для высева употреблялись рожки, подвергшиеся действию температуры 80, 90, 100 и 110°. Дополнительно одна повторность проб таких рожков перед высевом была подвергнута охлаждению в течение 25 дней при 0—0,5°.

Проведенные опыты показали, что прорастание незначительного количества рожков можно получить спустя 1½—2 месяца после высева их; массовое же прорастание рожков можно получить через 2½ месяца после высева и выдерживания их в искусственно создаваемых условиях.

При этом не было отмечено специфического действия высоких температур на прорастание рожков. Кроме того, была установлена возможность сохранения рожков в течение зимы в сухом и теплом помещении, что подтверждается следующими данными (табл. 6).

Таблица 6

Прорастание рожков по некоторым вариантам опытов

Место сбора рожков	Повторность	Условия нахождения рожков в течение зимы	Время высева в почву	Результаты прорастания
Куйбышев	Первая	Хранение рожков в условиях теплой комнаты	25/III	Массовое прорастание рожков
»	Вторая	То же	25/III	
»	Первая	Хранение в лаборатории, потом помещение 25/III на ледник при температуре 0° на 15 дней	11/IV	Есть прорастание То же
»	Вторая	То же	11/IV	То же
»	Первая	То же, но выдерживание при 0° 30 дней	25/IV	То же
»	Вторая	То же	25/IV	То же
»	Третья	То же	25/IV	То же
»	Первая и вторая	Хранение в условиях лаборатории	11/IV	Нет прорастания
»	Первая и вторая	То же	25/IV	То же

Таким образом, видно, что при высеве рожков после хранения можно в определенных условиях получать ко времени цветения ржи массовое развитие стром.

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ГРИБА НА ИСКУССТВЕННЫХ СРЕДАХ

Опыты по культивированию спорыньи на искусственных средах проводились неоднократно различными исследователями. При этом обычно применялись среды сложного состава. Во всех случаях были получены мицелий и конидии гриба, и только Кирхгоффу и Мак Кри [Kirchhoff (10) и McCrea (11)] удалось получить псевдосклероции гриба.

В 1938 г. автором были получены мицелий и конидии на искусственных средах обычного состава. В 1939 г. эти исследования были повторены и, кроме того, были испытаны среды, имеющие в своем составе сахара. В процессе работ стало ясно, что для опытов с разведением спорыньи можно ограничиться культивированием гриба только на двух средах: мальц-агаре и агаре по Ваксману.

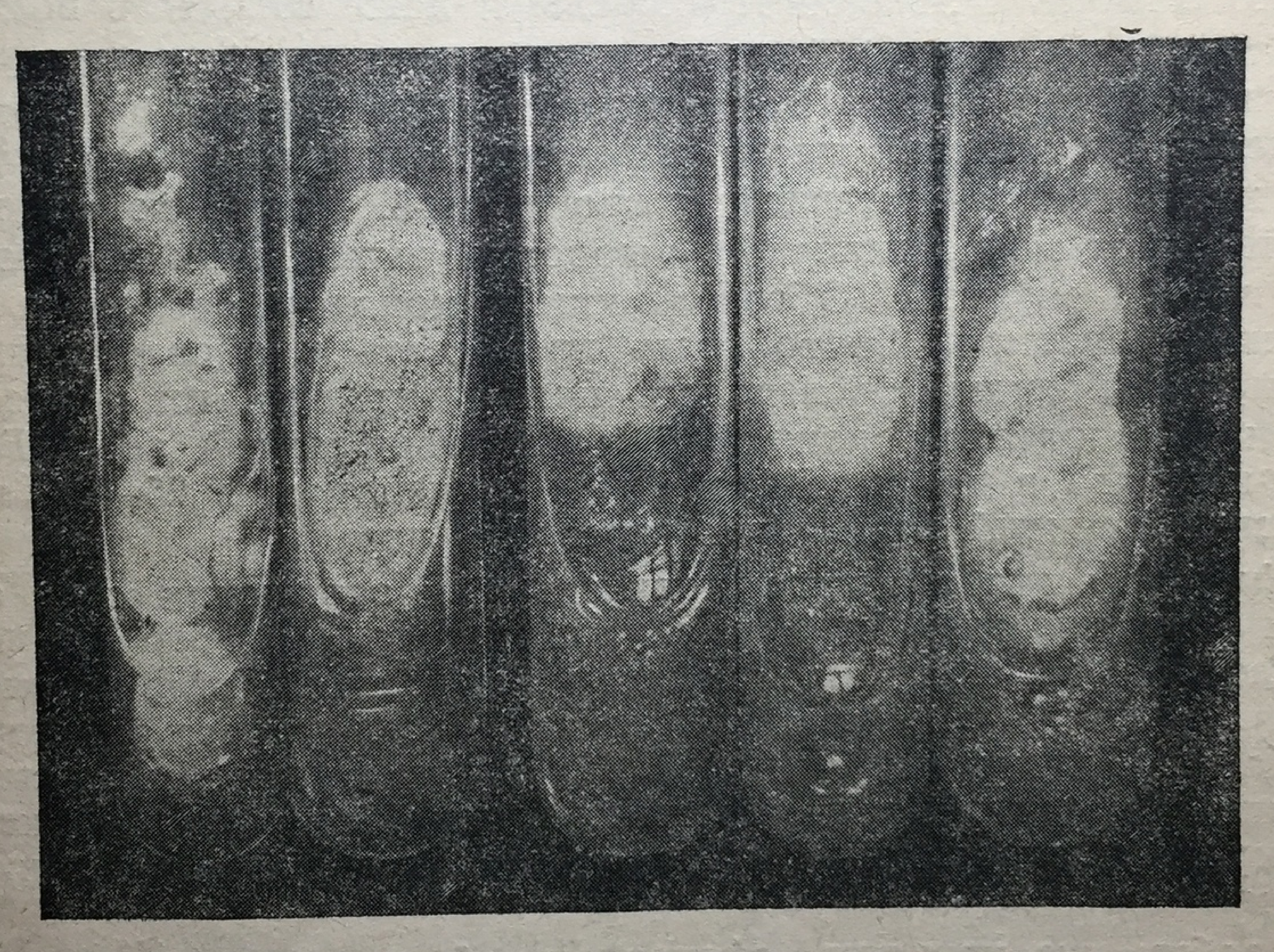


Рис. 2. Культура гриба на агаре по Ваксману.

Посев гриба производился помещением частей рожков на испытуемые среды. Для этого рожки или части их предварительно подвергались дезинфекции по одному из следующих способов: кусочки рожков проводились через спирт и обжигались в пламени спиртовки. Потом из внутренних частей рожков в сте-

рильных условиях вырезались маленькие кусочки ткани, которые помещались на среды. В других случаях рожки подвергались наружной дезинфекции раствором азотнокислого серебра в разведении 1 : 100 или 1 : 1 000 с последующей повторной промывкой в стерилизованной воде, после чего они измельчались и высевались на среды.

Установление жизнеспособности рожков, поступивших в 1939 г. для экспериментов, было произведено путем высева их после дезинфекции в растворе азотнокислого серебра 1 : 100 и 1 : 1 000 на агар по Ваксману. Последний имеет ряд преимуществ перед другими средами, особенно в отношении задержки развития на нем бактерий.

Развитие мицелия от посеянных на указанные среды тканей рожков происходит на 3—4-й день, задерживаясь иногда на агаре Ваксмана до 9 дней. При этом на последней среде отмечается развитие главным образом белого, стелющегося, трудно отделимого от среды мицелия с небольшим количеством конидий (рис. 2). В то же время на солодовом агаре развитие конидий можно наблюдать уже на 5—6-й день, а через 12—15 дней они образуются в массе. Начиная с этого периода их уже легко можно снимать с поверхности среды и даже отмывать водой.

Вначале конидии образуются на концах гиф из конечной клетки. Обычно только эти и близлежащие клетки бывают заполнены; в остальной части гифы наблюдаются пустые клетки или же только с постенной протоплазмой. Позже конидии образуются на многочисленных выростах, выходящих из различных частей мицелия. Образовавшиеся конидии способны тотчас же прорастать. Способность прорастать у образовавшихся на средах конидий проверялась при помещении их в висячие капли в колодезной, дождевой и стерилизованной воде. Было отмечено, что в дождевой воде при температуре в 25—26° прорастание конидий начинается через 2½ часа.

Культуры гриба можно получать при заражении сред спорами сфацелиальной стадии из медвяной росы, беря их непосредственно из капель на зараженных колосьях. После таких посевов, особенно на агар по Ваксману, развиваются культуры гриба, свободные от бактерий. Из этого следует, что споры в каплях медвяной росы взвешены в какой-то консервирующей жидкости, которая неблагоприятна для развития в ней микроорганизмов.

Вообще же конидии сфацелиальной стадии в природе не прорастают в этой жидкости. Биологически это объясняется тем, что конидии из только что образовавшихся капель не всегда могут сразу же попасть на завязи цветущей ржи, поэтому при прорастании в каплях росы многие из них погибли бы вместе с ростками, не вызвав заражения.

Образовавшиеся вначале жидкие и прозрачные капли медвяной росы через короткий промежуток времени (1—1½ часа)

становятся густыми и мутными. Потом равномерно взвешенные конидии оседают в нижней части капли, вследствие чего верхняя часть ее становится более жидкой и прозрачной (рис. 8, стр. 28). Это можно наблюдать и в лабораторных условиях при собирании росы в пробирки. Осевшие на дно конидии теряют вакуоли, в них появляются включения в виде капель или кристаллов какого-то вещества.

Споры сфацелиальной стадии легко прорастают при разбавлении медвяной росы обычной росой, дождевой и колодезной водой. Большое значение при этом имеет температура, что видно из табл. 7.

Таблица 7

Прорастание конидий сфацелиальной стадии в зависимости от температуры и разбавления[1]

Наблюдения проводились	Медвяная роса						
	неразбавленная	разбавленная в утренней росе 1 : 1			разбавленная в утренней росе 1 : 4		
	25° 30° 35°	25°	30°	35°	25°	30°	35°
Через 2 часа	Прорастаний нет	Единичные			Единичные		
Через 4 часа	Прорастаний нет	9—12	7—15	3—7	6	7—10	5—6
Через 6 часов	Прорастаний нет	10—12	Много	4—5	30%	Много	5—7

Как видно, время, необходимое для начала прорастания конидий сфацелиальной стадии, измеряется 2—2½ часами. Наиболее благоприятной температурой является 30°. Единично проросшие конидии сфацелиальной стадии были отмечены в неразбавленной медвяной росе при исследовании ее в висячих каплях. Это можно объяснить способностью медвяной росы поглощать воду из окружающего воздуха, вследствие чего концентрация ее уменьшается, особенно в периферических частях висячей капли, где и наблюдается прорастание конидий.

Таким образом, в результате исследований были получены данные о развитии мицелия и конидий на средах, а также испытаны способы прорастания конидий из сред и медвяной росы. Эти данные потом были использованы для опытов с искусственным заражением ржи.

---

[1] Приведены количества проросших конидий в поле зрения микроскопа при объективе 6, ~~окуляре 3~~.

ИЗЫСКАНИЯ НОВЫХ ИСТОЧНИКОВ ИНФЕКЦИИ

Источниками инфекции при проведении опытов с искусственным заражением ржи до настоящего времени считались проросшие рожки гриба, медвяная роса и культуры гриба на искусственных средах, образующие конидии. Однако ни один из указанных источников не обеспечивал производственного разведения спорыньи.

Как уже указывалось, прорастание рожков гриба происходит при сочетании ряда таких факторов, воздействовать на которые часто не представляется возможным. Сами же аскоспоры очень мелкие, рассеивание их стромами и попадание на завязи цветов ржи не улавливаются нашим глазом. Поэтому производственник при использовании этого способа заражения должен становиться в роль пассивного наблюдателя, не имея возможности получить в данное время и в определенном месте даже рассеивания аскоспор в необходимом насыщении.

Развитие сфацелиальной стадии (медвяной росы) стоит в зависимости от весеннего заражения завязей аскоспорами. При наличии определенных экологических условий инкубационный период (время от первоначального заражения до появления медвяной росы) может быть больше периода цветения ржи. В связи с этим конидии могут развиваться в то время, когда заражение ржи уже будет исключено или же ограничится «отставшими» и вторичными колосьями в кустах.

Получение конидий на искусственных средах сопровождалось рядом трудностей — сложностью состава сред, медленным развитием гриба и незначительным количеством образующихся при этом конидий гриба. Способ получения культур на обычном солодовом агаре с более быстрым ростом гриба, образованием на нем в массе конидий является более перспективным.

Действительно, опыты 1939 г. подтвердили эффективность применения этого способа для заражения ржи в полевых условиях. Способность конидий в старых культурах сохранять жизнеспособность даже в течение 11 месяцев дала основание заготовлять конидии гриба задолго до заражения ржи, видоизменяя способ хранения их.

Весьма интересными оказались результаты исследований по регулированию сроков развития сфацелиальной стадии (медвяной росы), когда первоначальное заражение было получено вне зависимости от прорастания рожков спорыньи, с помощью мицелия гриба, выведенного сапрофитно. Для этого небольшие кусочки 12—17-дневных культур гриба на агаре по Ваксману

с небольшим количеством среды помещались в еще не открывшиеся цветы после срезывания верхушек чешуй. Такие колоски на некоторое время обертывались влажной ватой. Позже такие же части культур подкладывались на выступающие с колосьев рыльца, обертывая ватой, как и в первом случае.

На 9—10-й день после заражения было отмечено образование сфацелиальной стадии. Вирулентность образовавшихся конидий была проверена заражениями ржи путем:

а) повторного нанесения капель медвяной росы, разбавленной в простой росе, с заключением на сутки зараженных колосьев в пробирки, закрытые ватой;

б) однократного нанесения капли сильно разбавленной медвяной росы на цветы без заключения колосьев в пробирки.

В этих случаях было получено заражение ржи с образованием на 9-й день медвяной росы, а потом, как и при заражении завязей мицелием, было отмечено нормальное формирование рожков (рис. 3).

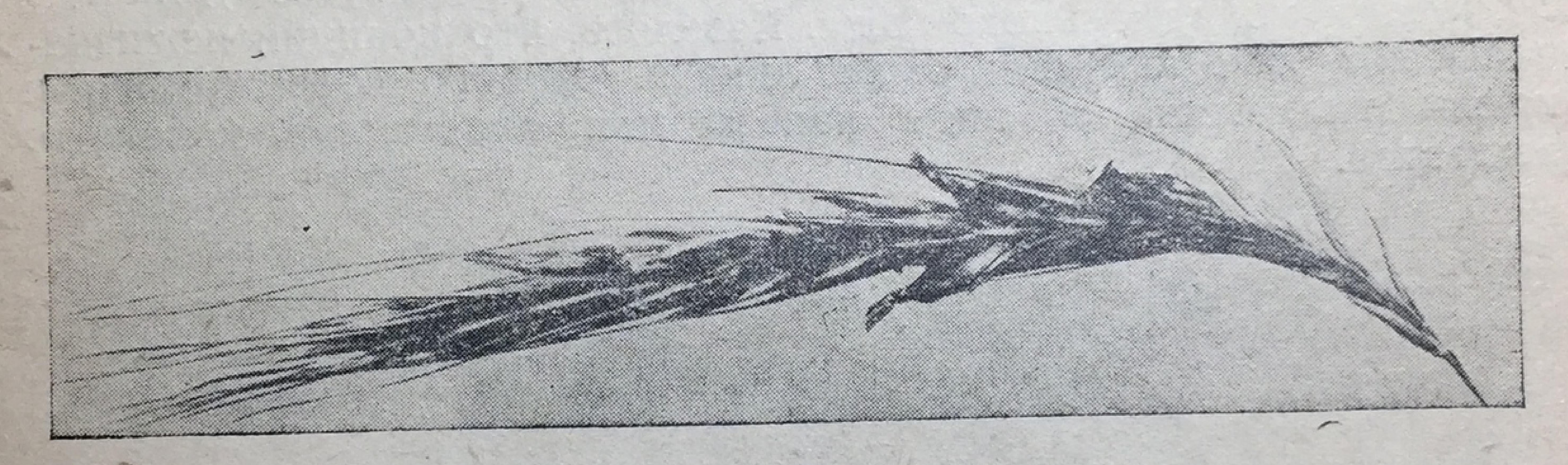


Рис. 3. Формирование рожков на 14-й день после заражения завязей культурой гриба со сред.

Таким образом было получено первоначальное заражение ржи спорыньи без участия проросших рожков. При этом медвяная роса может быть получена в больших количествах и именно к моменту массового цветения ржи, так как заражение можно производить задолго до полного развития цветов. Однако проведение таких заражений является делом довольно трудоемким. В дальнейших опытах выяснялась возможность использования этого способа для создания среди посевов ржи «очагов заражения».

Помимо этого, были найдены и новые запасы инфекционного материала, которые до сих пор не учитывались, но которые могут быть использованы для производственных целей. Так, при просмотре рожков спорыньи, поступивших для экспериментов, было отмечено, что часть рожков в некоторых партиях имела на концах, со стороны образования сфацелиальной стадии, менее плотную и светло окрашенную ткань (рис. 4). В некоторых слу-



Рис. 4. Рожки спорыньи с несклеротированными частями.

чаях такие участки на рожках были больших размеров; иногда можно было наблюдать ссохшиеся участки, свободно отделяющиеся от остальной твердой ткани фиолетового склероция. В иных случаях на концах рожков видны были как бы загустевшие капли медвяной росы в виде высохших капель камеди.

При просмотре под микроскопом таких капель можно было видеть много деформированных конидий сфацелиальной стадии. При исследовании частей рожков, описанных в первом случае, в препаратах обнаруживалась масса конидий сфацелиальной стадии (рис. 5), иногда с тканями конидиального ложа. Казалось, что конидии нежизнеспособны, так как они были лишены живого содержимого и имели включения в виде капель или кристаллов какого-то вещества.

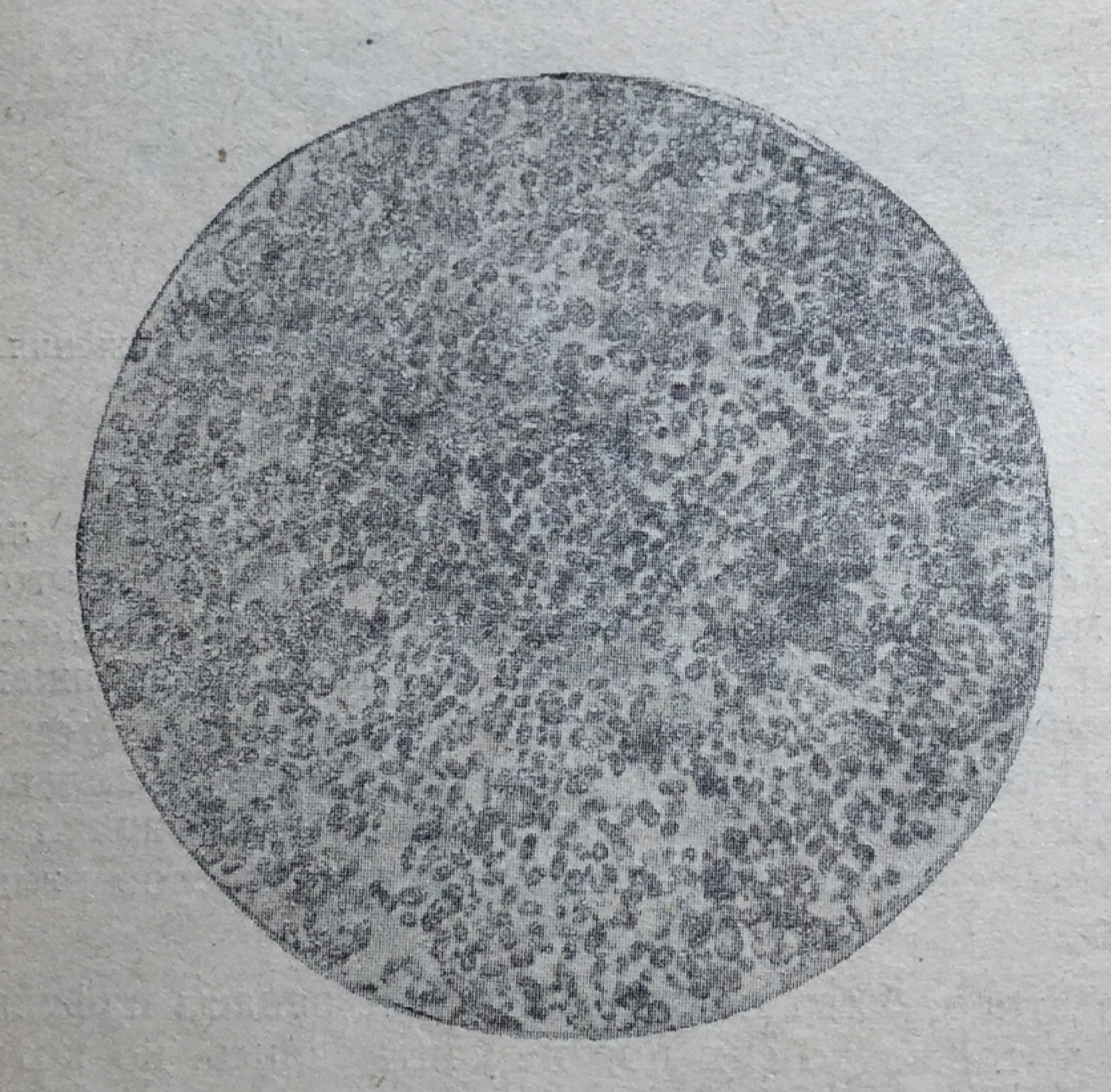


Рис. 5. Споры сфацелии из несклеротированных частей рожков.

Способы образования рожков с несклеротированными частями не были известны, так как значительное большинство про-

смотренных склероциев были обычными, т. е. представляли собой образования с равномерно твердой тканью. Однако было ясно, что при созревании в рожках с такими частями постепенно прекращались физиологические процессы и они, постепенно теряя влагу, высыхали; в связи с этим казалось возможным, что конидии не потеряли жизнеспособности. Необходимо было испытать способность их к прорастанию, также постепенно напитывая их влагой.

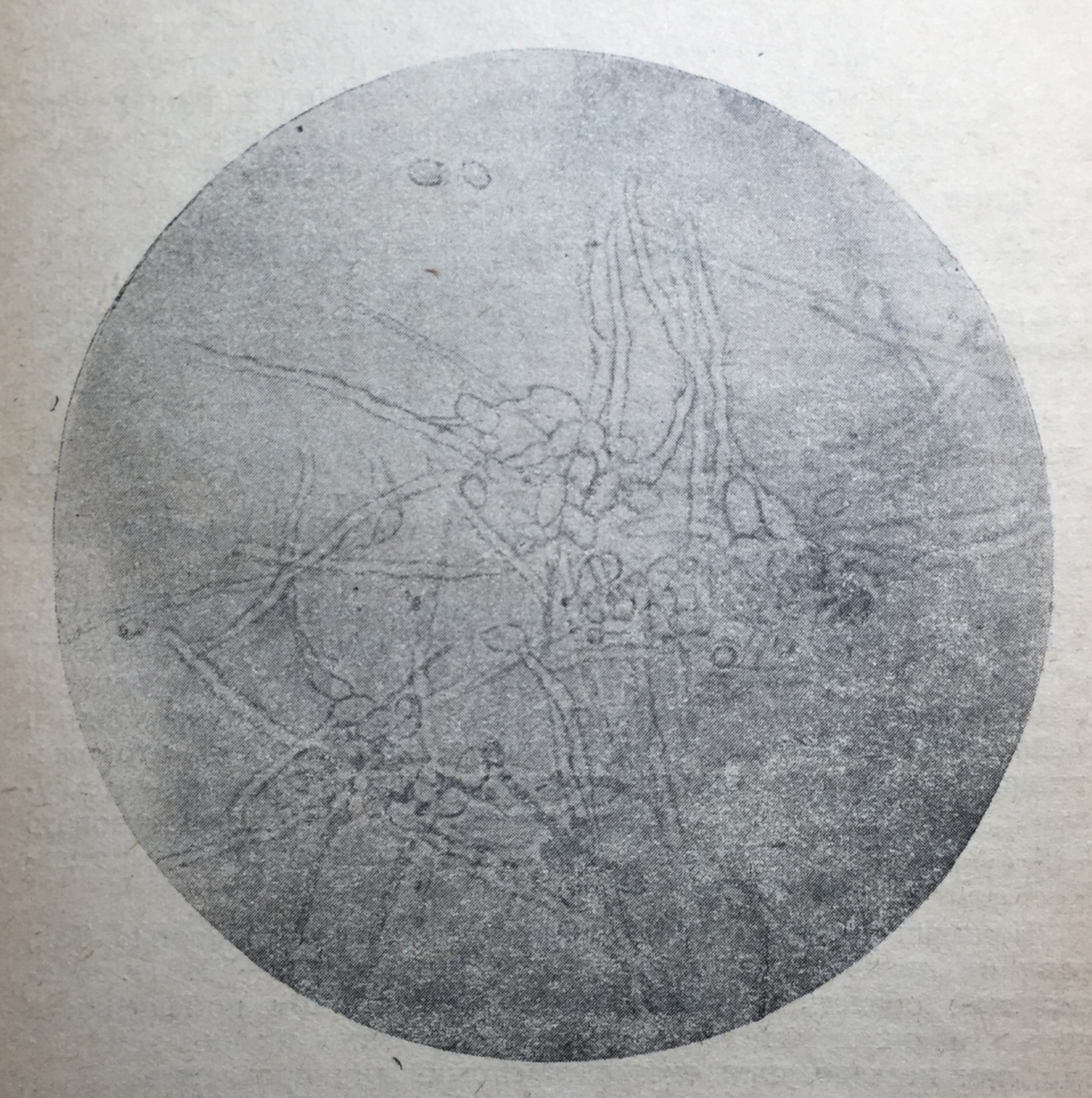


Рис. 6. Прорастание конидий из несклеротированных частей рожков.

Для этого отобранные рожки помещались вертикально в кристаллизаторы так, что один конец соприкасался с увлажненной ватой на дне сосуда, другой конец — не склеротированный — был свободен. В этом случае рожки постепенно напитывались

водой. Для более свободного доступа ее один конец рожков, соприкасающийся с водой, обрезался.

Уже через сутки можно было видеть, что верхняя ткань таких рожков становилась увлажненной и более вязкой. При исследовании сильно увлажненных тканей под микроскопом можно было видеть проросшие конидии. Через 72 часа у большого количества конидий можно было обнаружить содержимое в виде протоплазмы с вакуолями, а многие из них имели длинные ростки. Особенно много прорастало конидий при перенесении частей таких рожков в висячие капли из колодезной или дождевой воды (рис. 6). Через 2—3 дня ростки переплетались и становились заметными в виде маленькой пленки на поверхности капель. Еще через некоторое время на ростках можно было наблюдать разветвления, а потом отшнуровывание новых конидий.

Впоследствии массовое прорастание конидий получалось после наружной дезинфекции таких рожков раствором азотнокислого серебра в разведении 1 : 1 000 с последующим промыванием в стерилизованной воде, отделением и размельчением несклеротированных частей и оставлением последних на сутки во влажном состоянии. Прорастание конидий можно было наблюдать и в промывных (после дезинфекции) водах, начиная со второй. Прорастание конидий свидетельствовало о способности их вызывать заражение растений, что было подтверждено потом специальными опытами.

Образование рожков с несклеротированной тканью на концах, как было установлено последующими исследованиями, связано со степенью развития завязей во время заражения и с наличием влажной и сырой погоды во время формирования и созревания рожков. Следовательно, можно ожидать, что ежегодно в какой-либо части Союза будут условия, благоприятствующие развитию таких рожков, что можно будет использовать при разведении спорыньи. В 1939 г. они были обнаружены только в одной партии склероциев — из Новосибирска.

Конидии рожков обладают большой жизнеспособностью. Так, конидии из рожков, сохранявшихся зимою в 1939—1940 гг. в Московской области в деревянном неотапливаемом помещении и подвергавшихся действию обычных для зимы низких температур, при исследовании оказались способными прорастать.

Наконец, при просмотре рожков, присланных из разных мест, было обнаружено, что в отходах после склероциев в числе механической примеси — частиц земли и т. д. — всегда находится очень мелкая буроватая пыль. При исследованиях под микроскопом оказалось, что в этой пыли также находится масса конидий гриба (рис. 7). По виду они напоминали нежизнеспособные споры — без живого содержимого, с включениями в виде капель масла или кристаллов. Однако произведенные исследо-

вания с проращиванием указали на их жизнеспособность. Это дало основание испытать заражение ржи «отходами», так как можно было надеяться получить на базах Лекрастреста достаточно материала для опытов.


Рис. 7. Конидии сфацелии в отходах.

Однако заготовить требуемое количество отходов не удалось. Тогда был испытан другой способ получения отходов, а именно: было отмечено, что после особой обработки фиолетовых рожков можно получить темнобурую или шоколадного цвета взвесь. При исследовании оказалось, что она состоит из массы конидий, также способных прорастать. Последнему в сильной степени мешают бактерии, избавиться от которых до сих пор не удалось. Между тем при обработке в 1940 г. проб рожков из различных партий было обнаружено значительное количество конидий, что видно из следующих данных (табл. 8).

Таблица 8

Сравнительные данные о количестве конидий в отходах

Откуда получены рожки	Количество конидий в мм³
Калинин	500 000
Горький	326 000
Вологда	124 000
Казань	154 000

Как видно, в отходах находятся большие количества конидий, которые могут быть использованы для заражения ржи. К тому же надо иметь в виду, что после обработки рожков последние приобретают лучший товарный вид и при валоризации

в некоторых случаях у них увеличивается количество единиц действия, что подтверждается следующими данными (табл. 9).

Таблица 9

Результаты биологического исследования рожков спорыньи после взятия отходов (анализы выполнены ВНИХФИ)

Откуда получены рожки	Валор	
	контроль	после взятия отходов
Новосибирск	20	30
	20	30
Лубны	18	12

Способность конидий из отходов заражать рожь была проверена специальными опытами и, как увидим дальше, дала хорошие результаты.

Таким образом, в результате исследований была установлена возможность получения инфекционных начал в виде мицелия, конидий на средах, конидий из несклеротированных частей рожков и конидий из отходов. Все они были испытаны при заражении ржи в 1939 г.

ОПЫТЫ С ИСКУССТВЕННЫМ ЗАРАЖЕНИЕМ РЖИ

Проведение опытов с заражением ржи было сопряжено с большими трудностями. Ограничение исследований территорией только Крымской опытной станции Всесоюзного научно-исследовательского института лекарственных растений ставило под сомнение возможность получения положительных результатов от заражения, несмотря на наличие верных источников инфекции, выявленных предварительными работами. Просматривая многолетние данные метеорологической станции «Салгирка», ближайшей к полям опытной станции лекарственных растений, можно было отметить, что сочетания благоприятных условий для развития спорыньи в данном районе и вообще в Крыму не наблюдалось, так как цветение ржи обычно совпадает с сухой и жаркой погодой.

Поэтому, имея в виду возможность наступления в периоды заражения такой погоды, необходимо было иметь посев ржи в условиях, при которых можно было бы ожидать проявления заболевания. Это было достигнуто путем высева растений в тенистом саду возле реки. Таким образом, опыты с заражением ржи проводились в двух вариантах — на делянках в саду и в поле. Как в первом, так и во втором случае применялись следующие способы заражения ржи:

1) аскоспорами из проросших рожков при помещении последних на делянке во время цветения ржи;

2) взвесью аскоспор, полученной при раздавливании зрелых стром в воде;

3) конидиями из культур гриба на средах;

4) конидиями из несклеротированных частей рожков сбора 1938 г.;

5) отходами и

6) созданием в поле «очагов заражения».

ЗАРАЖЕНИЕ РЖИ НА ДЕЛЯНКАХ В САДУ

Для проведения этих опытов в густом тенистом саду на берегу реки Малый Салгир были заложены делянки ржи размером каждая в 1 м², с пятью рядами растений при междурядиях в 20 см. Опыт проводился в трехкратной повторности. Каждая повторность сосредоточивалась на отдельном участке, имеющем двенадцать делянок.

Участки были не равноценны. Наиболее открытым, с наименьшим количеством тени, был первый участок, более тенистым был второй и, наконец, в тени, под густыми деревьями, находились делянки третьего участка. Вследствие этого фазы развития ржи на указанных участках до некоторой степени не совпадали. Цветение ржи прежде всего началось на первом участке и самым запоздалым было на делянках третьего участка.

Вообще рожь на последнем участке была очень густой, отличалась меньшим ростом и дала незначительное количество мелких рожков.

Заражение на участках производилось по возможности одновременно. В наиболее благоприятных условиях для заражения находилась рожь на делянках второго участка. Первые заражения совпали с началом цветения, во время цветения рожь несколько раз заливалась водой, выходившей из берегов реки (от выпадавших ливней). Кроме того, тень от деревьев способствовала задержанию влаги и появлению обильных утренних рос. Срок цветения ржи на этом участке был наиболее длительным — до 21 дня. В связи с этим на делянках этого участка можно было производить наибольшее число заражений.

Основная схема опытов с заражением и наиболее эффективные источники инфекции проверялись методом индивидуального заражения растений, причем учитывались проявления заболеваний. Для этого на делянках занумеровывались не менее 10 обычно еще не цветших растений, на которых с помощью пипетки заражались по 5 цветов в каждом. Предварительно описывалось фенологическое состояние каждого зараженного цветка («еще не цветущие», «открывающиеся во время заражения» и т. д.), благодаря чему потом можно было точно учесть действие того или иного вида инфекции. Результаты однократных заражений приведены в табл. 10.

Таблица 10

Результаты учета однократного заражения ржи

Инфекционные начала	Количество зараженных колосьев	Количество учтенных колосьев	Из них с зараженными завязями	Общее количество рожков	Среднее количество рожков на 1 колос	Примечания
Неразбавленная медвяная роса	10	10	7	22	3,1	Большое количество мелких рожков
Конидии из культур гриба на средах . . .	10	10	9	28	3,1	
Сильно разбавленная медвяная роса . . .	10	10	10	28	2,8	Крупные рожки
Отходы	10	10	10	26	2,6	
Мицелий (в очагах заражения)	10	10	7	19	2,6	
Конидии из несклеротированных частей рожков	10	9	7	13	1,9	
Аскоспоры	10	10	4	5	1,25	

Таким образом, наибольшее количество рожков было получено при заражении ржи неразбавленной медвяной росой и конидиями из культур гриба на средах, т. е. при употреблении недавно образовавшихся заразных начал. Но, хотя при заражении неразбавленной медвяной росой образуется наибольшее количество рожков, все они бывают очень мелкими. Наименьшее количество их формируется при заражении ржи взвесью аскоспор, получаемой при растирании зрелых стром в воде.

Это было подтверждено при проведении по такому же методу многократных заражений, что видно из табл. 11.

Таблица 11

Результаты многократных заражений ржи

Инфекционные начала	Количество зараженных колосьев	Количество учтенных колосьев	Из них с зараженными завязями	Общее количество рожков	Среднее количество рожков на 1 колос	Примечания
Конидии из культур гриба на средах . .	17	14	12	52	4,3	После четырех заражений
Конидии из несклеротированн. частей рожков	16	16	16	58	3,6	После пяти заражений
Аскоспоры	16	16	7	13	1,9	После четырех заражений

Таким образом, наиболее эффективными для искусственных заражений ржи оказались конидии из культур на средах и несклеротированных частей рожков сбора предыдущего года. Положительные результаты были получены при применении отходов и в «очагах заражения».

Создание «очагов заражения» на делянках в саду было начато в 1939 г., в начале третьей декады мая. В качестве источника инфекции употреблялись пятидневные культуры гриба на агаре по Ваксману. Кусочки культуры со средой подкладывались под выпущенные из цветов рыльца или же помещались в цветок при срезывании чешуй, причем зараженные колосья обертывались ватой. Так как во время заражения установилась сухая погода, растения опрыскивались 2—3 раза в день из садового шприца. Потом колосья освобождались от ваты. Инкубационный период исчислялся 10—12 днями.

Для получения отходов (для однократного опрыскивания трех делянок) обрабатывались 300 г рожков из Новосибирской области. Взвесь конидий разводилась водой и полученной жидкостью опрыскивались растения на делянках. Для получения взвеси из конидий гриба, развившихся на средах, для однократ-

ного опрыскивания употреблялись 2—3 колбы Эрленмейера, емкостью в 50 см³, с культурой гриба на мальц-агаре. Вначале конидии отмывались 50 см³ воды, объем которой затем (перед опрыскиванием) доводился до 250 см³. Конидии из несклеротированных частей рожков для однократного опрыскивания получались при отделении частей со светло окрашенной тканью от 150 склероциев из Новосибирской области. Такие кусочки ткани предварительно увлажнялись, а потом растирались в 250 см³ воды. Наличие проросших конидий контролировалось под микроскопом.

Взвесь из аскоспор получалась при размельчении 50 стром со зрелыми асками в 250 см³ воды. Стромы собирались из проросших рожков из Куйбышева, прорастание аскоспор контролировалось под микроскопом. Наконец, для заражения ржи аскоспорами, обычно освобождаемыми в естественных условиях непосредственно стромами рожков, в плошки с влажной землей помещалось по 25 проросших рожков из Куйбышева. Растения и плошки несколько раз в день опрыскивались водой из садового шприца. Освобождение перитециев от сумкоспор периодически контролировалось анализами стром и помещением предметных стекол с вазелиновым маслом над склероциями. При микроскопировании препаратов освобождения стром от аскоспор не было обнаружено.



Рис. 8. Медвяная роса после искусственного заражения ржи.

Появление медвяной росы наблюдалось на 9—12-й день после проведения заражения. При этом после искусственного заражения отмечалось обильное образование росы: на одном колосе можно было обнаружить 5—9 капель ее (рис. 8). Наибольшее количество ее наблюдалось в ранние утренние часы, днем же встречались только отдельные капли.

При уборке ржи был произведен учет урожая спорыньи. Результаты его указывают на возможность получения в данных экологических условиях значительного заражения растений и большого урожая спорыньи, что видно из табл. 12.

Таблица 12

Результаты заражения ржи спорыньей в условиях сада

Инфекционные начала	Повторность	Количество заражений	% заразившихся колосьев	Среднее количество рожков на 1 колос	Вес рожков на делянке в г	Среднее из 2 повторн. при 2 заражениях на 1 га в кг	Наибольший урожай на 1 га в кг
Отходы	Первая	2 опрыскивания	15,5	2,0	11,0	125	204
	Вторая	3 опрыскивания	33,0	2,3	20,4		
	Третья	2 опрыскивания	26,0	2,0	14,0		
Конидии из несклеротированных частей рожков	Первая	2 опрыскивания	16,3	1,8	10,25	123	328
	Вторая	4 опрыскивания	55,3	2,2	32,8		
	Третья	2 опрыскивания	17,3	2,7	14,5		
Конидии культур гриба из сред .	Первая	2 опрыскивания	17,3	3,0	16,5	100	340
	Вторая	4 опрыскивания	43,3	3,0	34,0		
	Третья	2 опрыскивания	35	64,0	3,5		
Мицелий (в очагах заражения)	Первая	Однократно	3,8	2,2	3,0	49	103
	Вторая		13,8	2,8	10,3		
	Третья		13,0	1,6	5,8		
Аскоспоры в растворе	Первая	2 опрыскивания	2,0	2,3	1,5	13,7	30
	Вторая	4 опрыскивания	6,0	2,0	3,0		
	Третья	2 опрыскивания	1,2	1,7	1,25		
Аскоспоры, освобождаемые рожками	Первая		3,0	1,8	2,0	13	20
	Вторая		—	—	—		
	Третья		1,3	3,6	0,6		

Таким образом, было установлено, что наиболее эффективными источниками для заражения ржи являются конидии из культур гриба на искусственных средах, конидии из несклеротированных частей рожков сбора предыдущего года и конидии из отходов. Мало пригодными для этой цели оказались аскоспоры как при освобождении их непосредственно стромами, так и при приготовлении из них взвеси в воде. Следует упомянуть, что даже при однократном заражении растений отходами и сильно разбавленной в воде медвяной росой получено было от 70 до 100 кг рожков на 1 га.

При всех способах заражения на колосе удавалось получать в среднем 2—3 рожка за исключением случаев индивидуальной

обработки растений. Увеличение числа опрыскиваний приводило к увеличению количества больных растений. Оправдывает себя создание на делянках «очагов заражения». Распространение инфекции внутри делянки приводило к получению двойного количества зараженных растений. Этому способствовали насекомые, особенно мухи, охотно посещавшие колосья с медвяной росой.

Вообще же радиус распространения инфекции за пределы делянок был незначительным. Рожь на контрольных делянках, отстоящих от зараженных на 3—4 м, была поражена слабо, давая примерно 10 кг склероциев на 1 га. Механическое перенесение заразных начал за пределы сада исключалось, так как сад был окружен со всех сторон высокой каменной стеной с естественной густой изгородью из гледичии и густым рядом высоких тополей. В таких условиях можно было ожидать вынесения аскоспор вверх токами воздуха, но, как уже упоминалось, стромы в условиях Крыма не освобождались от сумкоспор. Производившиеся контрольные анализы всегда указывали на наличие в головках перитециев со спорами до разложения и усыхания стром.

ЗАРАЖЕНИЕ РЖИ В ПОЛЕВЫХ УСЛОВИЯХ

Для проведения опытов с заражением ржи в полевых условиях на полях зональной опытной станции осенью 1938 г. была высеяна рожь. Сорт был неизвестен, поражаемость спорыньей также. Участок с посевом ржи был расположен на окраине города, с северо-восточной стороны его. С двух сторон он граничил с садами и индивидуальными огородами, с остальных — с посевами опытной станции: лекарственными растениями и зерновыми (ячмень, овес).

Заражение ржи каждым способом проводилось на делянках в 50 м² в трехкратной повторности. Каждая делянка со всех сторон окружалась защитными полосами. С краев участка такие полосы были самыми широкими — от 20 до 60 м. Внутри участка они имели по длинной стороне делянки ширину в 5 м, по узкой — 10 м. Разделение делянок защитными полосами имело большое значение, так как это давало возможность учесть действие каждого способа заражения, а кроме того, установить степень рассеивания заразных начал от мест внесения инфекции.

Для установления возможности распространения инфекции на большие расстояния по посевам ячменя и овса были высажены 10 делянок с рожью по 1 м² каждая и 2 такие же делянки по другую сторону опытного участка (где были лекарственные культуры). За этими делянками велись систематические наблюдения.

Метеорологические условия для проведения опытов складывались весьма неблагоприятно в связи с наступлением к моменту цветения ржи сухой и жаркой погоды. В то же время, по данным Всесоюзного института защиты растений (2, 7), сильного развития спорыньи можно было ожидать только при сочетании

в это время высокой относительной влажности воздуха со сравнительно низкой температурой (12—13°) и наличием осадков.

Анализируя метеорологические данные за ряд лет, можно было видеть, что если в отдельные годы в Крыму относительная влажность воздуха была благоприятной для развития спорыньи, то высокие температуры исключали возможность развития гриба.

При проведении работ сведениями о сроках цветения ржи зональная опытная станция не располагала. Судя по фенологическому состоянию ржи, можно было ожидать, что цветение ее начнется примерно с 15 мая.

Но этот период 1939 г. отличался от предыдущих лет еще большей сухостью и отсутствием осадков в первую половину цветения ржи. Такая погода не могла не сказаться на цветении ржи. Отдельные цветущие колоски были отмечены 19—20 мая, полное цветение — 23—24 мая. Вообще цветение окончилось очень быстро, в течение 5—6 дней. Следовательно, условия для развития гриба были исключительно неблагоприятными, что сказалось на эффективности опытов. Из трех заражений, проведенных 23, 26 и 29 мая, положительные результаты можно было ожидать от первого, так как после второго заражения часть инфекции была смыта ливнем, а обработка растений 29 мая производилась в основном по уже отцветшей ржи.

Заражения производились обычно путем опрыскивания ржи взвесью конидий или аскоспор в воде. Для заражения ржи аскоспорами, освобождаемыми самими стромами, еще в марте были высеяны рожки в специально изготовленные ящики, которые свободно могли помещаться в междурядиях ржи. После прорастания рожков в саду, ящики к началу цветения ржи были помещены на делянках в поле. На 1 м² ржи приходилось 36 рожков со стромами.

Освобождения стром от аскоспор не последовало, что было установлено микроскопированием головок и периодическими просмотрами предметных стекол с вазелиновым маслом, помещаемых над проросшими рожками. Этому способствовала сухая погода, стоявшая в Крыму, хотя растения на делянках и рожки в ящиках несколько раз в день опрыскивались водой.

Следует упомянуть, что аскоспоры оставались в стромах даже при помещении проросших рожков на дно широкой пробирки с влажной ватой (рис. 9). Цветущие колосья ржи, помещенные в такие пробирки, не заражались. Малая эффективность аскоспор для заражений была подтверждена опрыскиваниями ржи взвесью их в воде, что привело к получению на делянках только нескольких рожков.

Весьма малый урожай спорыньи был получен также в очагах заражений. Вследствие того что стояла сухая и жаркая погода, наносимые кусочки культуры гриба со средой, несмотря на обертывание зараженных колосьев ватой и смачивание ее водой, усыхали, не вызвав заражения.

Только при заражении ржи отходами, конидиями из культур и рожков удалось, несмотря на неблагоприятные условия для развития гриба, получить заражение. Для получения конидий на искусственных средах были заготовлены для трех опрыскиваний культуры гриба на мальц-агаре в 40 колбах Эрленмейера емкостью в 50 см³. Конидии из несклеротированных частей рожков были получены при обработке 285 г рожков из Новосибирской области. Для получения конидий из отходов были обработаны 2,5 кг рожков также из Новосибирска.

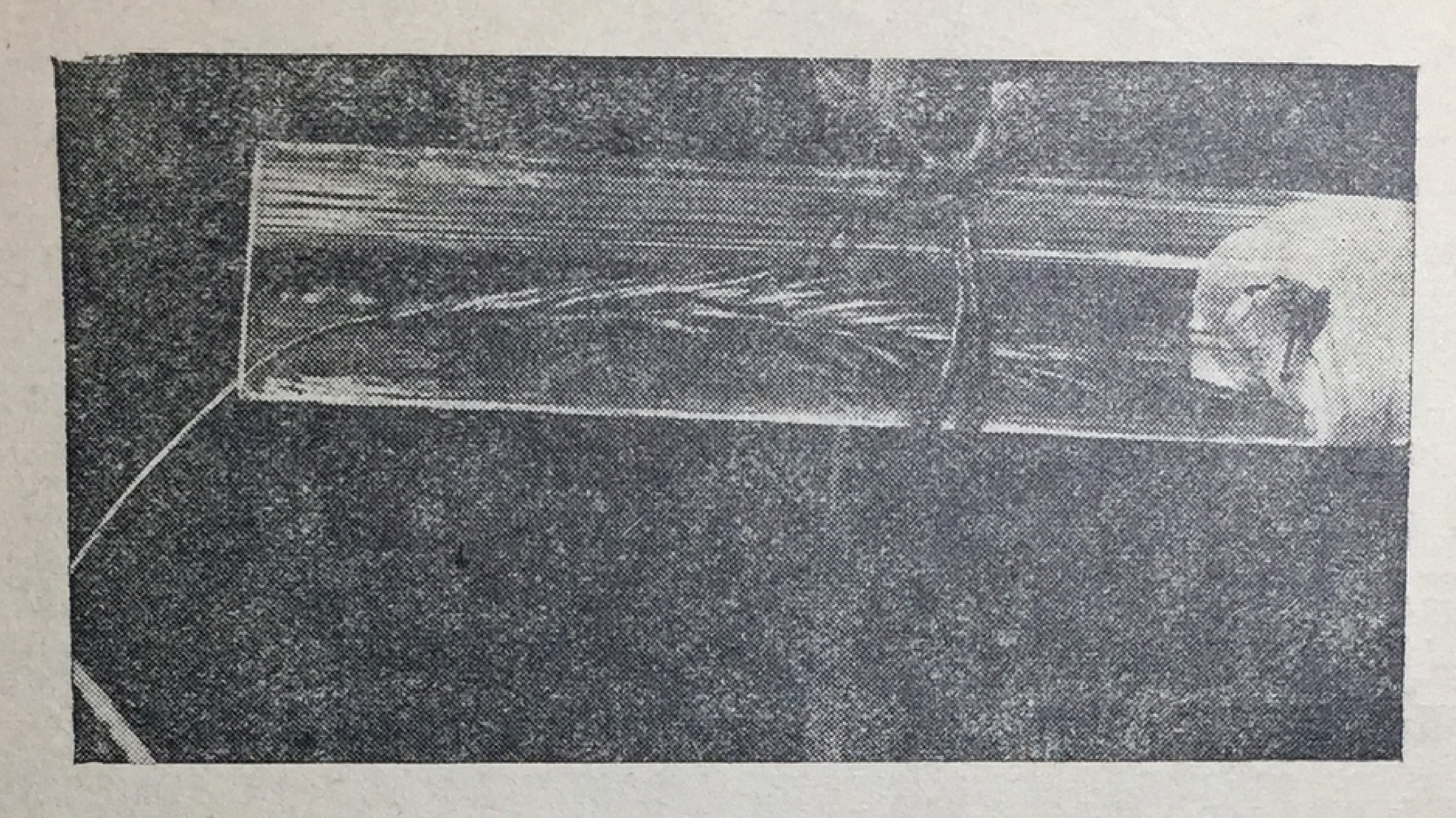


Рис. 9. Изолирование цветущих колосьев ржи для заражения аскоспорами.

Перед уборкой ржи был произведен учет урожая и ручной сбор спорыньи. В среднем был получен урожай в 10 кг рожков на 1 га, в некоторых случаях он доходил до 20 кг на 1 га, что видно из табл. 13.

Таблица 13

Результаты учета урожая спорыньи в полевых условиях

Вид инфекции	Количество заражений	Повторность	% заразившихся колосьев	Среднее количество рожков на 1 колос	Вес рожков на делянке в г	Среднее из трех повторностей на 1 га. в кг	Наибольший урожай на 1 га в кг
Конидии из несклеротированных частей рожков	3	Первая . .	8—11	1,8	93,65	12,0	19,0
	3	Вторая . .	4— 6	1,2	33,4		
	3	Третья . .	5— 9	1,0	49,5		
Отходы	3	Первая .	9—10	1,4	51,4	9,9	12,0
	3	Вторая . .	13—15	1,2	59,5		
	3	Третья . .	4— 7	1,1	37,0		
Конидии из культур гриба на средах	3	Первая . .	16—20	1,4	53,5	8,0	10,8
	3	Вторая . .	2— 4	1,5	47,0		
	3	Третья . .	3— 5	1,0	18,15		

Таким образом, при заражении ржи в поле было получено небольшое количество заболевших растений, в среднем с 1—2 рожками на колосе (рис. 10). Однако в этих условиях развивалось значительно большее число рожков первого сорта (длиной больше 1 см), чем при заражении ржи в саду, что видно из табл. 14.

Таблица 14

Оценка урожая спорыньи по сортам в зависимости от условий развития рожков

Инфекционные начала	Развитие рожков (в %) в условиях			
	сада		поля	
	1-й сорт	2-й сорт	1-й сорт	2-й сорт
Конидии из несклеротированных частей рожков	27,0	63,0	60,0	40,0
Отходы	23,0	77,0	55,0	45,0
Конидии из культур гриба на средах	20,5	79,5	52,5	47,5

Однако получение даже незначительных урожаев спорыньи при описанных выше условиях свидетельствует о большой эффективности таких средств, как конидии из несклеротированных частей рожков, со сред и из отходов. Это нашло подтверждение при проведении заражений указанными источниками инфекции в других экологических условиях (в саду). Совершенно непригодными для этих целей оказались рожки со зрелыми стромами и взвесь аскоспор в воде.

Это дает основание исключить прорастающие рожки из числа средств для заражения ржи, что имеет большое практическое значение. Аскоспоры образуются в большом количестве и при большой парусности могут переноситься на большие расстояния и тем самым распространять инфекцию. Отказ от употребления рожков значительно уменьшит опасность распространения болезни. Уже в опытах 1939 г. ни на одной из контрольных делянок, расположенных на разных расстояниях от участка с рожью, спорынья не была обнаружена. В небольших количествах были собраны рожки на защитных полосах, на которых развитие рожков большей частью приурочивалось к рядам ржи, смежным с обрабатываемыми на делянках. Самое большое расстояние, на которое была перенесена инфекция, доходило до 60 м. Развитие этих рожков происходило на отставших колосьях по краю участка после наступления сырой и пасмурной погоды.



Рис. 10. Развитие рожков спорыньи после заражения ржи конидиями из несклеротированных частей рожков.

Вместе с тем оказалось, что при применении тех или иных видов инфекции можно получать рожки различной силы действия, что видно из данных, полученных при валоризации рожков (табл. 15).

Таблица 15

Результаты биологического исследования рожков спорыньи (анализы произведены Научно-исследовательским химико-фармацевтическим институтом)

Источники заражения ржи на делянках в поле	Валор рожков
Отходы	33
Конидии из культур гриба на средах	20
Конидии из несклеротированных частей рожков	20

Таким образом, результаты исследований показали, что для заражения ржи весьма ценными оказываются отходы, которые в течение зимы можно заготовлять на базах в больших количествах, а также конидии, получаемые при обработке рожков. Такие рожки потом могут быть использованы для нужд медицины, тем более что у некоторых из них после указанной обработки увеличивается сила действия. Кроме того, ежегодно на базах можно будет отбирать партии рожков, несклеротированные части которых могут быть использованы для получения инфекционных начал.

В связи со способностью конидий в культурах сохранять в течение длительного времени вирулентность можно разработать способ предварительного изготовления и сохранения их в виде сухого препарата до начала заражения. Примерные количества инфекционных начал, необходимые для заражения ржи в полевых условиях, можно исчислить, исходя из опытных работ 1939 г.

ВЫВОДЫ

В результате опытных работ, проведенных в 1939 г. с целью установления возможности разведения спорыньи для медицинских целей, выявлены наиболее эффективные способы заражения ржи, пригодные для испытания в производственных условиях.

Способ заражения ржи с помощью рожков, прорастающих в естественных условиях, оказался совершенно непригодным для производственных целей. Надежным способом оказалось опрыскивание ржи растворами, содержащими заразные начала гриба.

Среди последних наиболее пригодными являются конидии в отходах, конидии из несклеротированных частей рожков сбора предыдущего года и конидии из культур гриба на искусственных средах. Заслуживает внимания метод создания в поле «очагов заражения». Все указанные виды инфекции дают возможность вызывать заражение ржи без участия проросших рожков спорыньи.

Это имеет большое практическое значение, так как аскоспоры, развивающиеся в больших количествах, при большой парусности представляют наибольшую опасность для распространения инфекции. При исключении их радиус распространения болезни от мест заражения будет незначительным.

Вместе с тем эти же виды инфекции могут быть использованы в производственных условиях. Получение отходов (даже в больших количествах) не представляет больших трудностей. Возможно изготовление препарата для заражения из конидий, получаемых на искусственных средах и находящихся в отходах.

Установлением таких видов инфекции разрешается основной вопрос о заготовке больших количеств заразного материала.

Можно полагать, что при заражениях ржи, высеянной на

участке, изолированном естественными или искусственными преградами от общих массивов с зерновыми культурами, опасность распространения инфекции будет весьма незначительной. К тому же ручной сбор рожков на растениях вокруг зоны искусственного разведения спорыньи, высев вокруг нее не поражаемых грибом растений создадут условия для локализации болезни в местах заражения.

Для испытания в производственных условиях указанных способов заражения можно исчислить по материалам работ 1939 г. нормативы расходования растворов, концентрации заразных начал, время опрыскивания.

В дальнейшем надлежит разрешить вопросы разведения гриба для медицинских целей на искусственных средах, фармакологического испытания склероциальных образований иных грибов и привлечения новых видов спорыньи, для замены ржи другими растениями.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Варлих В. К.,** Русские лекарственные растения, СПБ, 1912.

2. **Владимирский С. В.,** Географическое распространение и зоны вредоносного значения спорыньи ржи в СССР, рукопись и журнал Советская ботаника, № 5, 1939.

3. **Каракулин Б. П.,** Новое о спорынье, Природа, № 7—8, 1938.

4. **Мархасева В. А.,** Спорынья озимой ржи в 1937 г. (рукопись).

5. **Масалаб Н. А.,** Болезни лекарственных и некоторых технических растений, вызываемые видами Sclerotinia, Советская ботаника, № 6, 1938.

6. **Рождественский А. А.,** Спорынья. Сводка современных данных о спорынье. Материалы по микологии и фитопатологии, вып. 1, декабрь 1927.

7. **Ротер Б.,** Годовой отчет за 1937 г. В.-Устюгского опорного пункта Всесоюзного института защиты растений (рукопись).

8. **Тювин М.,** Термическая обработка семенного материала как фактор урожайности. Доклады Всесоюзной академии сельскохозяйственных наук им. Ленина, № 23—24, 1938.

9. **Békésy N.,** Über parasitische Mutterkornkulturversuche, Zbl. f. Bakt., Abt. II, Bd. 99, Nr. 14/7, 1938.

10. **Kirchhoff H.,** Beiträge zur Biologie und Physiologie des Mutterkornpilzes, Zbl. f. Bact., Abt. II, Bd. 77, 1929.

11. **McCrea A.,** The reactions of Claviceps purpurea to variations of environment, Amer. Journ. Bot., v. 18, 1931.

12. **Tschermak E.,** Massnahmen zur Gewinnung grösserer Mengen von Mutterkorn, Mitt. d. Dtsch. landw. Ges., 1921.

Приложение

Примерные расходы материалов и средств при опытном разведении спорыньи

№ п/п	Способы заражения	Количество опрыскиваний	Фенологическое состояние ржи при заражении	Примерные нормы на га	Расход растворов в литрах на га	Стоимость в рублях при обработке 1 га		
						материалов	рабочей силы	всего
1	Опрыскивание ржи конидиями из культур гриба на средах	4	Первое опрыскивание по отдельным открывающимся цветам; остальные через день каждое	2 400 колб Эрленмейера по 50 см³. Количество сухого препарата зависит от степени напитывания конидиями индиферентного вещества	600	700	155	85
2	Опрыскивание конидиями из несклеротированных частей рожков	4	То же	8 кг несклеротированных частей рожков	750[1]	120	395	51
3	Опрыскивание отходами	4	То же	Отходы, полученные при обработке 250 кг рожков	750[1]	100	455	555
4	Создание в поле очагов заражения	—	За 5—8 дней до цветения ржи	100 очагов по 50 растений в каждом	—	165	180	345

[1] В каждом кубическом миллиметре раствора должно быть примерно 20 000 конидий.

СОДЕРЖАНИЕ

Цена 1р. 50 к.

15 к.

1-50